Zoologia. — *Intorno ai Protozoi dei Termitidi*. Nota preliminare del Socio B. Grassi (in collaborazione con A. Foà) (¹).

Lo studio dei Protozoi, che vivono nei Termitidi, da me e dalla mia assistente dott. Anna Foà lasciato interrotto per parecchi anni affine di poter completare la nostra monografia sulle Fillosserine, venne in questi ultimi tempi ripreso dal Comes, in parte da solo e in parte col Buscalioni, dall'Hartmann e dal Janicki. A quest'ultimo, che frequentava il mio laboratorio, ho affidato il faticoso studio dei Protozoi di alcuni Termitidi esotici (su preparati allestiti in parte dalla dott. Foà allo scopo di completare lo studio delle singolari forme da lei segnalate in un Termitide del Chilì, e in parte, dietro mia preghiera, dal prof. F. Silvestri alle Isole Haway). Tale lavoro venne dal Janicki compiuto con grande accuratezza e con buoni risultati: desideravo perciò ch'egli riprendesse lo studio delle forme nostrali, ma pur troppo altri impegni gli impedirono di accogliere questo mio invito.

Ho pertanto creduto opportuno di tornare io stesso sull'argomento, perchè mi sembra che le osservazioni di Comes sui protozoi dei Termitidi nostrali e più ancora quelle di Hartmann sopra forme americane non segnino davvero un progresso nel difficilissimo studio di questi esseri, i quali sono straordinariamente suggestivi, e destano a primo aspetto molte speranze; mentre poi, soprattutto a chi, non appagandosi di semplici descrizioni, tenti di svelarne il ciclo di sviluppo e di approfondirne la biologia, oppongono gravissime difficoltà. Di queste difficoltà, a mio parere, non debbono essersi accorti nè Comes nè Hartmann. Così mi spiego come essi credano di aver portata la luce intorno a fenomeni, sui quali io avevo fissato a lungo la mia attenzione con poco profitto, ovvero rimettano in campo questioni che io ho definitivamente risolute. Ritornando in questa occasione sui Protozoi dei Termitidi, non ho mancato di tener presente anche recentissimi lavori su altri Protozoi parassiti.

Premettendo che un lavoro più esteso con tavole è in preparazione, riassumo in questa Nota quelle osservazioni che nel momento attuale mi sembrano più importanti.

§ 1. *Posizione sistematica e classificazione*. — Secondo l'Hartmann, io avrei collocati i Protozoi dei Termitidi in parte tra i Flagellati e in parte tra i Ciliati; invece io ho scritto che « li comprendo tutti nella classe dei Flagellati » (1893), e sono lieto di poter oggi mettere in rilievo che, non

(¹) La signorina dott. A. Foà, dopo di avere dedicato molto tempo a questo lavoro, lo ha abbandonato per specializzarsi nell'entomologia agraria.

ostante tanti progressi fatti in questi ultimi diciott'anni nello studio dei Protozoi, non solo non veggo ragione alcuna di modificare il mio giudizio, ma anzi rilevo che tutto concorre a confermarlo. La posizione dei Protozoi dei Termitidi nella classe dei Flagellati era allora, come è oggi ancora, della più chiara evidenza, e appare naturalissima per chi non si limita a studiare a vapore e con preconcetto alcune forme.

L'Hartmann s'illude di aver definitivamente eliminata dal mondo (uso la sua frase) la natura « flagellata » delle Triconinfide, fondandosi su grossolani errori, che non occorrerebbe rilevare se egli non andasse per la maggiore tra gli studiosi dei Protozoi e nelle sue critiche non si atteggiasse a riformatore.

Io mi limiterò a contestargli questi fatti:

I. Non è vero che la *Triconympha agilis* sia tutta rivestita di ciglia, o, più esattamente, di flagelli: questi sorgono da una zona anteriore e, essendo molto lunghi, vengono a coprire anche la parte posteriore (circa due terzi) del corpo, dalla quale non se ne diparte alcuno, appunto come ho pubblicato già da molti anni. Contrariamente a quanto pretende l'Hartmann, io non ho mai parlato di immobilità delle ciglia della parte posteriore del corpo nella *Trichonympha*: ho bensì descritte come stereociglia le ciglia della parte posteriore della *Joenia* e queste, certamente, nessun Hartmann sarà mai capace di far vibrare.

II. Tutto induce a credere che le tre forme ritenute ad occhio e croce dall'Hartmann come maschi, femmine e giovani della *Trichonympha Hertwigi* appartengano invece a tre differenti generi, cioè a quello da me denominato *Pyrsonympha* (Grassi, nec Leidy) le forme giovani, ad un nuovo genere affine ai generi *Pyrsonympha* (Grassi, nec Leidy) e *Holomastigotes* (Grassi) i supposti maschi, e infine ad un genere nuovo abbastanza vicino alla *Trichonympha* le supposte femmine.

Esempî di polimorfismo così straordinario tra i Protozoi, io non ne conosco. In ogni modo occorrerebbero serie prove per farlo ammettere e non semplici supposizioni: supposizioni del resto anche da me tenute presenti nello studio dei Protozoi dei Termitidi, ma non potute mai in alcun modo rendere plausibili e anzi dimostrate inverosimili.

III. Esistono forme, le quali connettono quelle dei Termitidi cogli altri Flagellati. Si passa per gradi da forme con un bel ciuffo di flagelli (evidentemente molto prossime a forme provviste soltanto di alcuni flagelli) ad altre che ne sono tutte rivestite: separare queste ultime per erigerle a classe a sè da mettere alla pari coi Cigliati e coi Flagellati è assurdo. La parentela è indicata anche dal bastoncello assile, dal collare, dal modo di nutrizione, ecc. ecc. Per quanto riguarda il nucleo fa duopo mettere in rilievo che la *Calonympha* non è strettamente imparentata, come vuole l'Hartmann, colla *Trichonympha*, dalla quale è invece molto lontana. È perciò destituita di ogni fondamento

e rientra nella categoria degli *aegri somnia* la concezione dell'Hartmann che il nucleo della *Trichonympha* sia polienergide e monoenergide quello della *Calonympha*.

Per quanto siano dunque belli e interessanti i Protozoi dei Termitidi, non possono venire elevati, come vuole l'Hartmann, a classe equivalente ai Ciliati e ai Flagellati.

Tentiamo ora di renderci conto dei posti che loro spettano tra i Flagellati. E qui non ho da fare alcuna mutazione sostanziale a quanto ho già esposto nel 1893. Alcune forme sono, a così dire, banali; altre invece sono straordinarie. Queste ultime appartengono a tre gruppi lontano l'uno dall'altro. A quale livello elevare questi tre gruppi è questione, direi quasi, di gusto. Da parte mia, seguendo i criterî preferiti oggigiorno, propongo di fare di uno di essi un nuovo ordine, e degli altri due, due nuove famiglie, o superfamiglie.

Denominerò il nuovo ordine *Hypermastigina* per indicare che rappresentano i Flagellati parassiti (uso la parola parassita nel senso più lato) più elevati e più grandi e le due nuove famiglie *Dinenymphidae* e *Calonymphidae*.

Volendo attenerci al sistema del Blochmann, dovremmo collocare gli *Hypermastigina* dopo i *Polymastigina*. Dividerei per ora questi ultimi in quattro famiglie:

I. *Tetramitidae* Bütschli emend. (vi comprendo anche *Polymastigidae* Bütschli p. p.).

II. *Distomatidae* Hartmann (comprendente *Hexamitus* e *Lamblia*).

III. *Dinenymphidae* Grassi.

IV. *Calonymphidae* Grassi.

Le ultime tre famiglie non sembrano per altro in istretta parentela tra loro; ritengo al contrario che rappresentino rami profondamente separati l'uno dall'altro e terminali.

Riassumo, pertanto, la classificazione che provvisoriamente addotto, non tenendo calcolo delle forme nuove, che descriverà quanto prima Janicki: vi comprendo invece anche le *Lophomonas* delle blatte.

Ordine: Hypermastigina.

Forme per lo più relativamente grandi con flagelli numerosi, disposti in svariati modi. Provvisoriamente le tengo riunite in una sola famiglia: *Lophomonadidae* che divido in generi. Premetto che le forme dei Termitidi assumono tutte alimenti solidi (legno), eccetto il genere *Holomastigotes*:

I. *Eulophomonas* n. gen.: flagelli a ciuffo, in numero vario da 5 a 15 e più, sorgenti da un evidente cerchio quando sono numerosi; bastoncello assile; forme relativamente piccole. Vi appartiene una sola specie (*E. Calotermitis* Grassi), che era rappresentata da molti individui tutti con 15 e più flagelli

in colonie di *Calotermes flavicollis*, tenute per un anno in termostato. Successivamente vennero da me veduti in varie occasioni, specialmente nei Calotermiti allevati in laboratorio, individui con numerosi flagelli, però insieme con essi se ne trovavano altri con soli 5-8 flagelli ben distinguibili coi comuni metodi d'indagine. Questi ultimi individui mi paiono identici ai soliti con pochi flagelli che si trovano in tutti i Calotermiti. Riunendo assieme questi dati, ho concluso che l' *Eulophomonas* può presentare un numero di flagelli vario, da pochi a 15 e più, come ho già detto. Si tratta pertanto di una forma che viene a collegare gli *Hypermastigina* coi *Tetramitidae*, tra i quali ultimi potrebbe anche venire iscritta, di poco mutando i caratteri di questa famiglia, ovvero ritenendo anormali le forme con numerosi flagelli. Segnalo infine che il Künstler ha descritto, per es., come *Trichomonas intestinalis* della cavia un Flagellato che per la quantità dei flagelli si avvicina alla mia *Eulophomonas*.

II. *Lophomonas*: flagelli in una serie disegnanti una circonferenza interrotta in un punto; bastoncello assile; forme piuttosto piccole, ecc. ecc. (Ved. il lavoro di Janicki su questi Protozoi delle blatte).

III. *Mesojoenia* n. gen.: flagelli disposti sopra una superficie piuttosto estesa, subtondeggiante; bastoncello assile anteriormente quasi a piccozza, o a impugnatura strana, molto assottigliato all' estremità posteriore; doppio collare con foglioline; lamina e nastrino a lettera esse mal distinti; forme grandi. Vi appartiene un' unica specie parassita del *Calotermes flavicollis* (*M. decipiens* n. sp.).

IV. *Joenia*: zona di flagelli richiamante la figura del nostro cuojo capelluto, però non esattamente simmetrico ai due lati; bastoncello assile a mestolo, terminante posteriormente a oliva; doppio collare con foglioline; lamina e nastrino a lettera esse evidentissimi, circondati da speciali lacune piene di liquido; forme molto grandi.

V. *Microjoenia*: flagelli sorgenti in fitte serie sublongitudinali da una zona vicina all' estremità anteriore delimitante perciò quivi un cerchio anteriore, il quale si presenta come l' operculo di un angusta lacuna, contenente liquido, e risalta perchè sprovvisto di flagelli; bastoncello assile; una serie di speciali corpi tondeggianti al margine posteriore della zona suddetta; forme piuttosto piccole.

VI. *Trichonympha*: flagelli sorgenti in fitte serie longitudinali da una larga zona, che può occupare più del terzo anteriore del corpo, ma lascia libera però l'estremità anteriore, la quale presenta come il genere precedente una sorta di operculo, o cappuccio; zona flagellifera ripartita da una fenditura in due parti, anteriore e posteriore; l'anteriore molto più corta, molto più stretta e con serie di flagelli ridotte a metà di numero, ognuna corrispondente (sempre?) a due di quelle della parte posteriore; ispessimento tubolare assile nella parte anteriore della zona flagellifera, esteso anche al

primo principio di quella posteriore, in avanti chiuso e poi rivestito dal cappuccio, restando una lacuna contenente liquido tra il cappuccio e l'estremità anteriore del tubolo (disposizione che richiama quella del genere precedente); la lacuna non è tuttavia limitata all'indietro soltanto dall' estremità anteriore dell' ispessimento tubolare assile, ma anche da una sorta di diaframma, che la separa da uno spazio chiaro circondante l' ispessimento suddetto e che nel suo centro porta una sporgenza corrispondente appunto all'estremità anteriore chiusa dell' ispessimento tubolare assile; invece del bastoncello assile e del collare, un cestello che sul fondo contiene il nucleo; questo cestello risulta di fibre radiali curve, che vanno ad inserirsi al confine posteriore della zona flagellifera senza corrispondere alle striature (V. più avanti). Vi appartengono due specie: *T. agilis* Leidy (molto grande) e *minor* n. sp. (meno grande). In questa seconda specie la zona flagellifera è molto più corta che nella prima, e le fibre del cestello si prolungano all' indietro del nucleo, quelle di un lato incrociandosi con quelle dell'altro lato. Oltre a ciò non si distingue davanti del nucleo quella massa granellosa, a figura di pera, che caratterizza la specie *agilis*.

VII. *Pseudotrichonympha* n. gen. (femmine di *Trichonympha* Hartmann, nec Leidy nec Grassi): la zona flagellifera è estesa a tutto il corpo, eccetto l'apice anteriore e l'estremità posteriore, in corrispondenza alla quale assume alimento solido; flagelli in serie longitudinali o quasi. Per altri caratteri, ved. Hartmann.

VIII. *Spirotriconympha* n. gen. (sinonimo: *Pirsonympha* Grassi, nec Leidy): le singole serie spirali di flagelli non si seguono distintamente all'estremità anteriore, dove diventano fittissime e più non sembrano spirali, ma bensì trasversali; questa estremità anteriore è appuntita e provvista di un ispessimento subassile, tubolare posto al davanti del nucleo, chiuso anteriormente, dove si riscontra pure operculo e lacuna; il tutto presso a poco come nel genere VI e forse anche nel genere VII; fibre simili a quelle del cestello, fitte, in complesso ripartite in due fasci incrociantisi press'a poco, come nella *T. minor*, ricoprenti da una parte il nucleo e riunentisi al davanti di esso in guisa da formare una sorta di punta, all' indietro poi prolungantisi fino all'estremità posteriore (¹); serie di corpicciuoli tondeggianti lungo le linee spirali dei flagelli; assunzione dell' alimento dalla estrema punta posteriore sfornita di flagelli.

IX. *Holomastigotoides* n. gen. (maschi di *Trichonympha Hertwigi* di Hartmann).

X. *Holomastigotes*: le serie spirali di flagelli si possono facilmente seguire fino al principio dell'estremità anteriore donde si dipartono; manca

(¹) Questa disposizione rende incerto il confronto del cestello col collare e fa piuttosto pensare a rapporti di esso col bastoncello assile.

il fascio di fibre e l'ispessimento tubolare assile dell'estremità anteriore; nell'endoplasma granuli speciali tondi, più o meno grossi, poco rifrangenti; lungo le linee spirali dei flagelli, corpicciuoli granulosi, molto piccoli all'estremità posteriore dell'animale; nucleo molto accostato all'estremità anteriore, che non è assottigliata a becco come nel genere precedente, e non è fornita di cappuccio distinto.

NB. *Microjoenia* e *Pseudotrichonympha* rendono arduo il tentativo di un raggruppamento d'ordine superiore dei generi da me compresi negli Ipermastigini.

Se mancassero le or nominate forme, che in certo modo fanno da ponte tra i generi ad essi posti vicini, sembrerebbe naturale di riunirli in tre famiglie; l'una comprendente i gen. I — IV, un'altra il gen. VI, la terza i generi VIII — X. Certamente dal gen. I al X corre grande distanza che non vien messa in rilievo con la sola distinzione da me adottata. Si domanda se converrebbe elevare questi generi a sotto famiglie; per ora non sono in grado di rispondere convenientemente a tale domanda.

Famiglia: Dinenymphidae.

Flagelli tutti rivolti all'indietro, colorantisi come la cromatina col Giemsa e saldati al corpo in guisa da presentarsi come lamelle ondulanti, sporgenti liberi dall'estremità posteriore; benderella longitudinale subassile, contrattile; spesse volte l'animale è rivestito di bacteri, poggianti lungo le lamelle ondulanti; si fissa alla parete dell'intestino con un picciuolo che si forma alla estremità anteriore.

Genere *Dinenympha* (comprende *Dinenympha* Leidy, *Pyrsonympha* Leidy, *Lophophora* Comes). Io non sono finora arrivato a distinguere con sicurezza che una specie di *Dinenympha* (*D. gracilis*), la quale dapprima è libera e piccola, e talvolta non mostra con sicurezza il bastoncello contrattile (maschio di Comes): prontamente essa si fissa e ingrandisce (maschio e forme intermedie di Comes), assumendo successivamente altri caratteri (femmina e *Lophophora* di Comes).

Famiglia: Calonymphidae.

Molti nuclei, molti fili assili, molti blefaroplasti, molti collari. A ciascun filo assile spetta un ciuffetto di flagelli. Periodo di vita libera più o meno lungo.

Gen. *Calonympha* Foà: ad una parte dei fili assili coi relativi collari e blefaroplasti non corrispondono nuclei; collari ben evidenti (trovati da Janicki); periodo di vita libera molto lungo; si nutre di solidi (legno) in vita libera.

Gen. *Microrhopalodina* n. gen.; a tutti i fili assili corrispondono nuclei e blefaroplasti; collari difficilmente e non sempre rilevabili. Ha un periodo

di vita libera breve (da poco prima a poco dopo della muta del Termitide); in questo stadio non assume cibo solido. In un periodo, che dura per molto tempo, l'animale sta fissato alla parete dell'intestino con un lungo peduncolo ed è sfornito di flagelli (forma di fiasco); in questo stadio il protozoo si nutre di solidi (legno) e presenta corpuscoli speciali tondeggianti.

Unica specie: *M. enflata* nel *Calotermes flavicollis*.

§ II. *Nuove ricerche morfologiche* ecc. — Nella Nota preliminare del 1904 descrivevamo nella *Joenia* e nella *Mesojoenia* col nome di batacchio un organello, sul cui significato allora non ci pronunciavamo chiaramente. Oggi sono d'avviso che il batacchio si possa paragonare a un blefaroplasto. Esso è già doppio nel periodo di riposo, ed è tra questi due batacchi che appare il nuovo fuso, il quale perciò si sviluppa fuori ed a una certa distanza dal nucleo, e soltanto poco più tardi viene a trovarsi poggiato nel suo tratto di mezzo in una depressione di questo.

L'or detto batacchio è un ispessimento d'aspetto cuticolare, che talvolta evidentemente si mostra appiattito, ed ha un picciuolo più o meno pronunciato. Precisamente il fuso compare tra le parti distali dei batacchi [1], i quali, vanno allontanandosi l'uno dall'altro mano mano che il fuso s'allunga.

Alla sua estremità prossimale il batacchio si continua da una parte con quell'organello, che io ho denominato regolo e a cui si attaccano i due collari; dall'altra con un altro organello complicato, che per brevità denomino sospensorio. Sospensorio e regolo disegnano grossolanamente la figura di campana, o, se si vuole di arco, dalla cui sommità pende il batacchio.

All'estremo prossimale del batacchio fa capo anche quell'organello che nella precedente Nota preliminare ho denominato nastrino, ed ora preferisco denominare nastrino a lettera esse.

Il regolo è in avanti sdoppiato ad angolo acuto in due striscioline; di esse una va appunto al batacchio e l'altra al margine della laminetta basale dei flagelli. Queste due striscioline all'indietro sono fuse assieme, in modo che non posso dire se i due collari siano rispettivamente la continuazione di ciascuna di esse.

Il sospensorio è molto complicato e difficilissimamente rilevabile in totalità sopra un solo individuo; certo è che si tratta di una striscia strettissima, che origina e finisce all'estremità prossimale del batacchio, descrivendo un'ansa e che con questa estremità si continua senza interruzione, come pure colla strisciolina suddetta del regolo, che va al batacchio. Un'altra parte del sospensorio si perde tra il nucleo e il bastoncello assile (concavità del mestolo nella *Joenia*).

[1] Lascio incerto se il fuso sia una centrodesmosi: talvolta mi parve di vederlo formarsi in un piano vicinissimo ma differente di quello in cui si trovano i batacchi.

Il nastrino ad esse, così detto dal suo ordinario modo di presentarsi, appare in continuazione con la lamina (vedi la precedente Nota preliminare) in vicinanza all'estremità prossimale del batacchio, dalla quale appunto anch'esso si diparte.

La laminetta basale dei flagelli presenta fittissimi corpuscoli basali disposti in uno strato. Ritengo che questa laminetta formi il limite interno dello strato alveolare e che da essa si dipartano i flagelli, che percorrerebbero questo strato alveolare in corrispondenza agli spigoli degli alveoli per trapassare poi la pellicola e diventare liberi. Osservando lo strato in discorso, oltre ad una striatura per il lungo, si rileva anche una striatura trasversale, meno spiccata; credo che i flagelli sorgano dai punti d'incrocio delle due linee corrispondenti alla striatura.

Aggiungerò qui che nella *Trichonympha* questa striatura è in tre direzioni (almeno in una parte), una longitudinale molto più spiccata a cui corrispondono linee sporgenti, e le altre due oblique in senso inverso l'una all'altra; i flagelli nascerebbero ai punti d'incontro delle tre linee corrispondenti alla striatura. Del resto esiste anche nella *Trichonympha* una laminetta basale come quella della *Joenia* e della *Mesojoenia*.

Il significato di una parte degli organelli di cui ho fin qui parlato, come del pari quello del bastoncello assile, viene, a mio avviso, alquanto illuminato dallo studio del loro sviluppo durante il processo di divisione dei protozoi in discorso. Purtroppo i primissimi stadî sono difficilissimi ad osservarsi. Come ho detto, nella *Joenia* la zona flagellifera trova fino ad un certo punto riscontro per la sua disposizione nel nostro cuoio capelluto; denominerò perciò dorsale la faccia, a cui corrisponde la zona flagellifera, e ventrale quella opposta [1].

La parte che abbiamo paragonata al cuoio capelluto sulla faccia ventrale delimita un'area sfornita di flagelli che sembra appiccicaticcia; essa va restrigendosi dall'indietro all'avanti; all'estremità anteriore, che è appunto la parte più ristretta lasciata libera dai flagelli, si iniziano, a mio avviso, le nuove aree flagellifere coi flagelli dapprima corti e poi man mano allungantisi (vibrano già al loro primo apparire). Sembra spesse volte che l'area flagellifera sia per parecchio tempo unica, ma mi è accaduto di veder con sicurezza che essa era invece già doppia, quando il fuso era ancora molto corto; esistevano in questo caso due aree lunghe e strette, che per la loro situazione, all'esame *in toto* potevano benissimo dare l'apparenza di un'area unica. In ciascun area fin da principio rilevasi la laminetta basale coi ca-

[1] Adottando questa nomenclatura artificiosa (dico artificiosa perchè in realtà non c'è ragione di chiamare ventrale o dorsale piuttosto l'una che l'altra faccia), la gobba del mestolo viene a corrispondere a destra e il regolo a sinistra L'animale è evidentemente asimmetrico. Asimmetrica è anche la *Mesoioenia*.

ratteri definitivi sopraddetti: essa va man mano estendendosi fino a raggiungere la grandezza definitiva. Un batacchio tocca col suo estremo prossimale un'area e l'altro l'altra; il punto di contatto è sempre al margine dell'area; quivi batacchio e area sono intimamente saldati. Si può dire che tra i corpuscoli basali dei flagelli e il fuso s'intercala il batacchio. Dall'estremo prossimale di ciascun batacchio si dipartono il regolo e il nastrino ad esse: il regolo parallelo e contiguo all'area flagellifera. Il nastrino ad esse è in continuazione con due altri organelli: la già nominata lamina e la guaina che qui nomino per la prima volta.

Precisare la disposizione e la formazione di questi tre organelli, che, s'intende, si ripetono per ciascun batacchio, è molto arduo. Io mi sono persuaso che essi si sviluppino tutti da un unico accenno, che viene a trovarsi tra gli estremi prossimali dei due batacchi. Certo è che durante il processo di divisione alle volte si vede un unico organello, che sembra rappresentare tutte e due le coppie dei tre organelli. Questi altre volte, in stadî più avanzati, si veggono ben distinti, ma continui l'uno coll'altro, i tre d'uno stesso lato, cioè, corrispondenti ad un medesimo batacchio; talvolta anche la estremità distalo (punta) della guaina d'un lato è continua con quella dell'altro. Quel che molto importa, si è che la guaina viene ad occupare il posto dove si svilupperà il bastoncello assile. A questo riguardo debbo in base a molte osservazioni fatte a fresco e a molti preparati meglio conservati, modificare alquanto ciò che si legge nella precedente Nota preliminare. Io ho potuto osservare che gran parte del bastoncello assile si forma dentro la suddetta guaina, che durante il processo di divisione si presenta ripiena di una sostanza dapprima apparentemente omogenea.

Inclinerei a credere che il fuso formi soltanto la parte posteriore del bastoncello assile nella *Joenia* e che nella *Mesojoenia* si conservi per tutta la lunghezza del bastoncello assile. Il fuso col progredire del processo di divisione della *Joenia* e della *Mesojoenia* va allontanandosi dal batacchio o, forse più esattamente, va riassorbendosi a cominciare dal batacchio.

A mio avviso, il bastoncello assile anche negli altri Flagellati non viene formato totalmente dal fuso, che è molto più sottile del bastoncello suddetto e forse anche più corto, almeno in molti casi.

Tornando alle forme da me studiate, da quanto ho detto, risulta che fin dal suo primo apparire il nastrino ad esse è in rapporto di continuità col batacchio e anche colla lamina e colla guaina dentro cui formasi in gran parte il bastoncello assile.

Possiamo perciò ritenere che questi organelli siano *ab initio* collegati direttamente o indirettamente col batacchio; con questo si continuano, come ho già detto, pure *ab initio*, regolo e sospensorio. Siccome nello sviluppo il batacchio (almeno da un lato) preesiste a tutti i nominati organelli, così è naturale di supporre che essi siansi differenziati diretta-

mente dal batacchio e in continuazione con questo, molto più che due di essi, il regolo e il sospensorio, sono formati dalla stessa sostanza, densa e d'aspetto cuticulare. Gli altri (nastrino, lamina e guaina) presentano tanti granuli, sul cui significato non mi pronuncio; noto soltanto che si conservano sui preparati e si colorano intensamente coll'ematossilina di Heidenhain.

Io sono tentato di riunire assieme il batacchio colle appendici che denomino regolo, collare e sospensorio sotto il nome comprensivo di *sinblefaroplasto*. Inclino molto a riunirvi anche il nastrino ad esse, la lamina, la guaina e il bastoncello assile e perfino oserei associarvi i corpuscoli basali. Quali rapporti abbiano tutte queste parti col centrosoma e coll'apparato reticolare del Golgi, nello stato attuale delle nostre cognizioni, non si può stabilire.

Alcune altre particolarità trovano qui posto.

Nel bastoncello assile notansi strette lacune piene di liquido che lo percorrono per il lungo.

È facile assistere al rotare di questo bastoncello dentro il corpo della *Joenia*, rotando contemporaneamente nello stesso senso, quasi fossero da esso trascinati, anche il regolo, il collare, il nastrino ad esse, la lamina, il nucleo e la zona flagellifera. Non di raro la parte anteriore si torce insieme cogli or menzionati organelli sulla parte posteriore del bastoncello, che dimostra così un non piccolo grado di elasticità.

Sospensorio, regolo, collari, nastrino ad esse, lamina a guaina sono esclusivi delle Joenie e delle Mesojoenie? Io, fin dal 1904, ho ritenuto che si dovesse trattare di organelli molto diffusi negli altri Flagellati parassiti e che fossero fin qui sfuggiti per la difficoltà di metterli in evidenza nelle forme ordinarie, che sono per lo più molto piccole. Nel frattempo ho dimostrato l'esistenza di un un organello paragonabile al collare anche in un piccolo flagellato parassita del *Calotermes flavicollis* (avente un ciuffetto di 4 (?) flagelli e un flagello più grosso rivolto all'indietro). Janicki lo ha ricercato e dimostrato nel mio laboratorio in parecchi altri casi e ha deneminato il collare corpo parabasale per evitare qualunque confusione col collare dei Coanoflagellati. Ma in proposito uscirà quanto prima una di lui Nota preliminare, della quale naturalmente io ho già preso cognizione.

Nella famiglia delle *Calonymphidae* si riscontrano dei fili assili lunghi, che ricordano da vicino i bastoncelli assili. È verosimile che siano ad essi omologhi.

Nella famiglia delle *Dinenymphidae* esiste, come ho già detto, una benderella parassile contrattile. Essa si forma nel processo di divisione ad un estremo del fuso, collegata con questo per mezzo di un corpuscolo (talvolta di un filuzzo?) che la precede nello sviluppo e devesi denominare centrosoma. (S'intende che anche all'altro estremo del fuso corrisponde un

centrosoma e si forma un'altra benderella). Dal centrosoma, a quanto sembra si dipartono anche i flagelli.

L'omologia della benderella contrattile col bastoncello assile sembra dubbia.

Sul processo di divisione della *Joenia* devo aggiungere alcune notizie. Il momento e il modo in cui avviene il raddoppiamento del batacchio sono difficilmente determinabili: mi è accaduto di trovare già un paio di batacchi ad un estremo di un fuso ancora poco lungo, cioè molto prima della divisione del Flagellato (all'altro estremo se ne rilevava con sicurezza uno solo).

Nel processo di divisione è notevole che talvolta i due gomitoli, già alquanto scostati, appaiono riuniti da un filo cromatico, che si continua col filo di ciascun gomitolo; talvolta, invece di un filo connettente, se ne trovano due o tre. Certamente il filo non si divide per il lungo, benchè ad un certo momento possa sembrare che sia doppio.

La divisione dei nuclei può avvenire con molta differente quantità di cromatina, come dimostra la variabilità di lunghezza e di spessore del filo e della grossezza complessiva del gomitolo. Non è dunque soltanto la quantità di cromatina il fatto che determina, o permette la divisione.

I singoli gomitoli dei nuclei neoformati, prima che entrino nella fase di apparente riposo, sono evidentemente raccolti e si direbbero attaccati ciascuno a quel punto della membrana nucleare, al quale corrisponde il batacchio (blefaroplasto) (¹). Ritengo che tale rapporto non si perda mai del tutto.

Tutto concorre a far credere che nel periodo di apparente riposo il filo del gomitolo resti conservato, per quanto prolungamenti, ramificazioni secondarie, e probabilmente anche anastomosi, tendano a velarlo, facendo nascere l'immagine di un reticolo. Quei fenomeni, che accadono per i singoli cromosomi nei nuclei, che entrano in riposo, nel caso della *Joenia* e *Mesojoenia*, si verificano nel filo del gomitolo *in toto*. (Qualche volta questo filo presenta delle interruzioni che meriterebbero ulteriori ricerche). È importante notare che il passaggio dalla condizione di apparente reticolo a quella di gomitolo, in una piccola parte del nucleo, precede: quivi il filo del gomitolo è già bene evidente, quando il resto del nucleo ha ancora aspetto reticolare.

Voglio qui aggiungere che in un caso, osservando a fresco nella soluzione solita di cloruro di sodio e di albume, ho visto il filo del gomitolo muoversi dentro la membrana del nucleo come fosse un serpentello: purtroppo queste osservazioni stancano eccessivamente gli occhi e perciò le ho abbandonate.

Noto nel nucleo in riposo, un nucleolo, talvolta anche due e perfino tre; quando sono due, non è raro che appaiano riuniti da un ponte, che può sembrare una centrodesmosi. Si tratta sempre di nucleoli plastinici. In certi

(¹) Questo stadio ricorda la nota fase di sinapsi.

casi, in cui ve n'era uno solo, ho potuto vedere che esso, nella divisione, passava in uno dei due nuovi nuclei.

Per altri particolari riguardanti il processo di divisione, rimando il lettore alla Nota preliminare del 1904. Aggiungerò soltanto che ho veduto spesse volte, al principio della divisione, staccarsi le foglioline [1] dal collare, trasformarsi in pallottoline e venire successivamente riassorbite; che però vadano distrutti anche il filo, a cui stavano attaccate, e il regolo relativo, non ho potuto stabilirlo con sicurezza in nessun caso. Molte volte invece, nelle figure in divisione, un regolo mi parve più sviluppato dell'altro, il che mi fece ritenere che fosse quello antico passato ad uno dei nuovi individui.

Crederei perfino che in qualche caso le foglioline stesse non andassero distrutte e passassero esse pure col resto del collare e col regolo ad uno degli individui derivanti dalla divisione. Nell'altro individuo si formano certamente *de novo* regolo, collare e foglioline.

* * *

Di tutte le forme da me accennate nei Termitidi, una sola, come ho già detto, non assume legno. Essa presenta dei corpuscoli speciali sulla cui natura non ho fatto ricerche. Corpuscoli simili si trovano in gran quantità nella *Microrhopalodina enflata*, quando sta attaccata alla parete dell'intestino.

Il legno negli altri Ipermastigini viene assunto dalla parte posteriore e precisamente da quella parte maggiore o minore che è tutta nuda, ovvero in parte nuda e in parte provvista di stereociglia (*Joenia* e *Mesojoenia*).

Non si assiste mai con sicurezza all'assunzione dell'alimento. La prova che questa avviene nelle suddette regioni [per importazione (*Nahrungsimport* delle Amebe) e molto probabilmente anche per movimenti ameboidi (*Nahrungumfliessung* delle Amebe)] risulta indirettamente dal fatto che non di rado lo stesso frammento di legno viene fagocitato da una parte da un individuo e dall'altra da un altro (alle volte da una *Mesojoenia* e da una *Joenia*, ovvero da una *Trichonympha agilis* o da una *Triconympha minor*), e perfino da tre e più individui. Questi individui, che digeriscono dunque uno stesso boccone, vengono così a toccarsi per un tratto circolare o quasi, più o meno esteso: nel mezzo di ciascuno di questi tratti vedesi approfondata una parte del frammento; questo perciò viene digerito contemporaneamente da varî individui.

Nei punti di contatto degli individui, se c'erano stereociglia, scompaiono e si forma, per lo più, anche dove non esistevano, come una sorta d'ingranaggio a denti poco segnati (introflessioni di un individuo e corrispondenti estroflessioni dell'altro). Talvolta in corrispondenza al punto dov'è penetrato il frammento legnoso, o il pelo vegetale, un individuo presenta un lobo, che

[1] La sezione trasversale di una fogliolina è subtondeggiante e un tratto del contorno si suole comportare come il filo, a cui sta attaccata.

penetra in una infossatura dell'altro. Là dove avviene la digestione appare una sostanza particolare ialina, che meriterebbe uno studio ulteriore.

Questi fenomeni possono a tutta prima sembrare di natura plasmogamica, il che si può certamente escludere, perchè anche individui di diverso genere possono, come ho detto, trovarsi associati.

Comes, dopo aver riferita la mia osservazione che l'assunzione dell'alimento avviene come nelle amebe in corrispondenza alla parte del corpo non fornita di flagelli, ritiene che l'ultima parola sull'argomento non sia stata ancora detta, non potendosi escludere del tutto che anche una vera e propria nutrizione possa aver luogo dal polo anteriore od orale dell'animale « dove esiste infatti una specie di imbuto faringeo, che presenta continui, vistosi e rapidi movimenti di invaginazione e di estroflessione, in ciò coadiuvato dalle circostanti ciglia flagelliformi ». « Le nostre ricerche in proposito non approdarono a nulla » — si affretta ad aggiungere il Comes —; ed è ben naturale perchè quella specie di imbuto faringeo, se così osiamo denominarlo, è chiuso da doppia porta. Se Comes si fosse reso conto esatto della struttura della estremità anteriore degli Ipermastigini da lui osservati, non avrebbe certo azzardata la sua ipotesi. Si tratta, invece che di un citostoma, di una sorta di punta, o cuneo elastico, che serve forse all'animale per aprirsi la strada e forse anche come ventosa.

La zona granulosa davanti al nucleo della *Trichonympha agilis* funzionerebbe da fegato, secondo Comes. Io voglio mettere in rilievo che i granuli si conservano nei preparati fatti coi più differenti metodi e non sono certamente di glicogeno. Che però nella massa granulosa si contenga del glicogeno, o qualcosa di simile, non lo nego; osservo tuttavia che la reazione bruno acagiù non si trova localizzata davanti al nucleo, ma si estende a tutto il corpo nella affine *Triconympha minor*, in cui non è distinta la suddetta zona granulosa. La stessa reazione dà spesse volte il bastoncello assile delle Joenie. Mi affretto a soggiungere che per pronunciarsi definitivamente sulla natura della sostanza che si assume il suddetto colore e sul suo significato occorrono ben altre ricerche di quelle fatte fin ora, molto più che anche il glicogeno non è esclusivo del fegato. La reazione riferita dal Comes aveva rilevata anch'io già da molti anni (allora si usava molto la soluzione iodoiodurata per lo studio dei Protozoi), ma non avevo osato parlarne per non entrare in un campo nel quale non mi sentivo e non mi sento competente.

Un episodio singolare del processo di nutrizione dei Termitidi ho rilevato studiando le Joenie. Nelle Joenie spesse volte si trova dietro al nucleo e al collàre una zona finamente granulosa che nella Nota preliminare ho interpretato come zona cromidiale. Uno studio ulteriore di questa zona si imponeva e venne da me intrapreso con grande cura, ma pur troppo con molto scarso profitto. È risultato però ben sicuro un fatto. Se noi nutriamo le Calotermiti con polvere di carminio per quarantotto ore, dapprima nella

parte del corpo posteriore alla così detta zona cromidiale, compaiono molti granelli fini di carminio e vacuoli digestivi arrossati da carminio disciolto: gli uni e gli altri mancano invece in corrispondenza alla così detta zona cromidiale. Qualche giorno più tardi, i granelli di carminio si riscontrano in questa zona numerosi; mentre nella parte del corpo ad essa posteriore, il carminio è in gran parte scomparso. Nella cosiddetta zona cromidiale vengono a raccogliersi seguendo presso a poco la strada che devono avere percorso i granuli di carminio, anche i batteri fagocitati dal Protozoo. Che cosa significhino questi fatti è difficile intenderlo; che nella zona in discorso si raccolgano le sostanze fecali, sembra improbabile perchè di rado essa presenta residui legnosi e perchè occupa la parte periassile senza arrivare alla periferia del corpo. Se si trattasse di Metazoi, sarebbe ovvio di pensare ad un organo fagocitario.

Il più singolare è che le Joenie e Mesojoenie che si sono pasciute di carminio, muoiono tutte.

La zona cosi detta cromidiale è in generale caratterizzata dalla presenza di granuli fini e numerosi, tondeggianti o a bastoncello. Essi si conservano anche nelle forme in riduzione per effetto del digiuno (V. più sotto).

Questa così detta zona cromidiale, è quasi sempre distinta nella *Joenia*; mentre invece appare soltanto eccezionalmente nella *Mesojoenia*.

§ III. *Ciclo evolutivo.* — Questo studio è molto più difficile di quanto potrebbe sembrare a tutta prima.

Comincio colla *Joenia* e *Mesojoenia*, alle quali ho dedicato un tempo lunghissimo. Esse si trovano facilmente in via di divisione, se si aprono Calotermiti al momento o appena dopo qualche ora che sono stati tolti dal nido intatto. Quando il nido è stato scombussolato, se si ritarda l'esame, difficilmente si trova una figura di divisione prima che la colonia sia rientrata in assoluta calma, il che richiede, spesse volte, qualche giorno. Le mie ricerche sono state così numerose, estese e prolungate che non esito a ritenere che tutto il ciclo evolutivo delle forme in discorso si riduce al processo di divisione in due, molto eccezionalmente in tre, in quattro, o più individui. L'infezione da individuo ad individuo deve avvenire direttamente con la feccia. Ricordo che, come abbiamo dimostrato da tanti anni, i Termitidi amano molto di nutrirsi con la feccia dei loro compagni, che raccolgono direttamente dall'ano, provocandone artificialmente l'uscita. Prima di arrivare all'intestino posteriore del *Calotermes* gran parte del corpo (quella dietro alla zona così detta cromidiale, contenente l'alimento in via di digestione) va perduta tanto nella *Joenia* quanto nella *Mesojoenia*.

Un fenomeno simile verificasi quando il Calotermite, appressandosi alla muta, cessa di nutrirsi; avvengono allora riduzioni anche nella parte anteriore del corpo, così nelle foglioline del collare, che possono perfino scomparire ecc.

Anche queste forme, evidentemente subenti gli effetti del digiuno, devono poter reintegrasi, se ingoiate, prima che l'alterazione abbia raggiunto certi limiti, da qualche individuo della colonia. Aggiungo che nel Calotermite prossimo alla muta, il numero degli individui dei generi in discorso diminuisce considerevolmente e nella gran maggioranza dei casi cessa il fenomeno della divisione, come dimostra il fatto che ho trovato soltanto un paio di volte una forma ridotta in via di divisione. Per quanto ricordo, i Termitidi dopo la muta non presentano mai alcun protozoo, eccezion fatta dell'ultima conducente all'insetto perfetto, nel quale passa sempre una quantità maggiore o minore dei varî ospiti, s'intende più o meno ridotti (¹).

Io escludo esplicitamente per la *Joenia* e per la *Mesojoenia*, lo ripeto, l'esistenza di qualunque processo di riduzione nucleare in senso stretto e di fecondazione; tengasi però presente che non mancano apparenze, che potrebbero indurre in inganno, così l'ingrandimento enorme del nucleo per la presenza di un parassita e l'esistenza di un parassita (forse ulteriore stadio di quello del nucleo) in mezzo al protoplasma, in qualche caso fornito di una singolarissima appendice di natura incerta. Escludo ogni processo d'incistamento sia per la *Joenia*, sia per la *Mesojoenia*: probabilmente la soppressione dell'incistamento e fors'anche quella della fecondazione sono rapportabili al costume or ricordato dei Termiti di mangiar la feccia dei proprî compagni all'atto della emissione.

Riassumo ora il ciclo della *Microrhopalodina enflata*. Una forma flagellata con un sol nucleo e un solo blefaroplasto si fissa alla parete dell'intestino perdendo i flagelli e a poco a poco ingrandisce enormemente, assumendo la figura tipica di fiasco fissato con la estremità libera del collo (prontamente si attaccano al fiasco una gran quantità di batteri). Il blefaroplasto e il nucleo si moltiplicano ripetutamente. Si hanno pertanto più o meno numerosi nuclei che si trovano a grandissima preferenza, quando non esclusivamente, alla parte del fiasco donde dipartesi il collo. Tanti filamenti assili vanno dall'estremità del collo, fissata all'intestino, fino ai nuclei; ogni filamento assile è in rapporto con un nucleo: molte volte si vede che lo sorpassa e va a perdersi verso il fondo del fiasco. Queste forme si nutrono di solidi (legno) che vengono assunti dalla parte allargata del fiasco. Quivi compaiono corpuscoli tondeggianti, più o meno abbondanti, più o meno grossi dei nuclei e che sembrano materiale di riserva (non grasso). Talvolta il legno manca anche totalmente nel corpo di questo Protozoo.

(¹) La cuticula dell'intestino posteriore si elimina in questo caso qualche tempo dopo la muta, cioè dopo che l'alato è diventato nero (ciò abbiamo osservato nel *Termes lucifugus*). Questa cuticula, prima di essere eliminata, presenta delle interruzioni che permettono il passaggio dei protozoi: molti di questi però muoiono e vengono eliminati con la cuticula.

All'epoca della muta del Calotermite le forme a fiasco diventano libere; in questo stadio il collo è scomparso del tutto o quasi, e con esso la parte corrispondente dei fili assili, e manca qualunque traccia di granuli e di legno: invece in corrispondenza a ciascun nucleo, dalla parte del fiasco donde sorgeva il collo si dipartono alcuni flagelli: perciò queste forme libere si muovono tenendo anteriormente la parte alla quale corrispondeva il collo. Ho tutte le ragioni di ritenere che ogni nucleo con i rispettivi flagelli, il rispettivo filamento assile e un po' di protoplasma diventi libero (conitomia) e formi quel piccolo flagellato che dà origine ad un nuovo fiasco.

Sorprendere in via di divisione le forme ospitate dal *Termes lucifugus* è molto malagevole.

Io credo che il ciclo della *Dinenympha* risulti di un primo periodo di vita libera e di un secondo periodo di vita fissa alla parete dell'intestino per mezzo di un picciuolo, formatosi indipendentemente dalla benderella subassile. In questo secondo periodo la *Dinenympha* ingrandisce molto; il suo nucleo dall'estremo anteriore si scosta verso la parte di mezzo del corpo (di spesso si trova che esso, benchè molto abbassato, presenta ancora un sottile e lungo prolungamento che va all'estremo anteriore). Ad un certo momento il protozoo si distacca dalla parete intestinale, diventa tondeggiante, i nuclei si moltiplicano (io ne ho trovati due, tre, quattro): credo che ciò preluda ad una conitomia che io però non ho potuto osservare.

La distinzione sessuale ammessa dal Comes per me non è neppure lontanamente dimostrata, così pure non lo è l'omologia dell'anello centrosomatico degli spermî con quello che egli chiama anello terminale, non derivando questo certamente dal centrosoma. Una punta simile a quella che ha tanto colpito Comes, si riscontra in molti altri flagellati forniti di bastoncello assile.

§ IV. *Utilità dei protozoi ospiti per i loro osti?* — Comes e Buscalioni hanno ripresa la mia ipotesi che i protozoi dei Termitidi siano necessarî ai loro osti. Veramente questi autori ritengono che io le abbia tolto peso asserendo che i Calotermiti devono certamente digerire il celluloso o la lignina, od entrambe queste sostanze. Se fosse così, io mi sarei contraddetto; ma ciò, a mio credere, non è sostenibile, ove non si voglia fare una questione di parole: infatti, tutti dicono e scrivono che il bue digerisce l'erba, e susciterebbe l'ilarità chi lo negasse, nonostante che nel processo di digestione questo venga molto coadiuvato dai bacteri intestinali. Se così si usava e si usa dire del bue, non so perchè non si possa dire altrettanto dei Termitidi, molto più che la necessità della presenza dei Protozoi non è dimostrata e d'altronde molti altri insetti xilofagi non hanno bisogno di intermediarî per digerire il legno, il che deve renderci guardinghi nel giudicare il caso dei Termitidi.

La ipotesi che io ho data come possibile, è stata poi veramente trasformata in realtà da Comes e Buscalioni? A me non sembra: anch'io avevo tentato reazioni in parte simili a quelle usate da Comes, consigliato io pure dal botanico Baccarini, allora mio collega a Catania; ma non osai indurne alcuna conclusione definitiva, soprattutto perchè notoriamente passa sempre nelle feccie molto alimento intatto o quasi (in generale gli animali assumono una quantità di cibo molto maggiore di quella che possono usufruire) e se questo, prima di venire eliminato è usufruito da parassiti, non ne viene di conseguenza che l'oste non possa vivere senza il loro aiuto. Per dimostrare questa tesi occorrono lunghe e difficili ricerche fisiologiche non solo sui Protozoi, ma anche su tutto l'intestino dei Termitidi, quali non ho fatto io, ma neppur Comes e Buscalioni, se si eccettuano alcuni parziali tentativi.

Per mio conto in questi ultimi anni ho cercato di decidere la questione in altro modo: se si tengono ad una temperatura di circa 35° C. scatolette contenenti legno pieno di *Calotermes*, i Protozoi muoiono, talvolta tutti, più spesso restano in vita soltanto le forme piccole; si hanno così delle colonie di *Calotermes* senza *Joenia* e *Mesoioenia*, e talvolta con molti individui anche del tutto privi di Protozoi. Io le tengo in vita prospera da parecchi mesi; perciò ritengo che i *Calotermes* possano digerire il legno anche senza gli speciali Protozoi (*Joenia* e *Mesojoenia*).

Come ho già pubblicato altra volta, non sono mai riuscito a tener vivi i *Termes lucifugus* in recipienti molto piccoli (tubetti o vasetti), in cui vivono benissimo i *Calotermes*. Prima dei *Termes* muoiono le Triconinfe; la morte di queste è preannunziata dalla mancanza di legno nel loro corpo. Tale scomparsa delle Triconinfe è stata osservata anche da Comes e da Buscalioni, che l'hanno attribuita a difetto di umidità. Essa accade anche tenendo i *Termes* in ambiente opportunamente umido, il che sembra contraddire l'idea dei suddetti autori. Tutto mi conduce a credere che il fenomeno sia molto più complicato: certo è che, dentro frammenti di legno anche non piccoli, i *Termes* in un tempo breve muoiono tutti, dopo un periodo di digiuno più o meno assoluto. Forse in conseguenza di questo digiuno dei loro osti, le Triconinfe si presentano presto senza legno, quando le altre forme ne contengono ancora una piccola quantità: perciò quelle morrebbero di fame prima di queste. Ma sull'argomento occorrono ulteriori osservazioni.